



Ein einfacher Zugang zu funktionalen Mustern auf Cellulosepapier durch Kombination von Laserdruck und materialspezifischer Peptid-adsorption

Steffi Große⁺, Patrick Wilke⁺ und Hans G. Börner*

Abstract: Mittels Phagen-Display wurden Peptide identifiziert, die materialspezifische Adsorption zeigen und effektiv zwischen Cellulose als Hauptbestandteil von Papier und dem Toner eines mit einem handelsüblichen Laserdrucker gedruckten Musters unterscheiden können. Diese genetisch selektierten 12mer-Peptide können selektiv entweder nicht bedruckte Cellulose oder gedruckte Tonerstrukturen beschichten. Weiterhin wird eine chemische Ligation mit Triazolindion genutzt, um z. B. Farbstoffe und funktionale Peptide selektiv auf einer Oberflächenbeschichtung zu befestigen. Diese Methode bietet einen einfachen Zugang zur Funktionalisierung von Mustern auf papierbasierten Materialien, wodurch neue Wege zur Realisierung kostengünstiger diagnostischer oder biomedizinischer Geräte aufgezeigt werden können.

Cellulose ist eines der am häufigsten vorkommenden natürlichen Materialien und hat dank ihrer Nachhaltigkeit, Biokompatibilität, biologischer Abbaubarkeit und günstigen Preisen zahlreiche Anwendungen.^[1] Innerhalb der letzten Jahrzehnte ist das Interesse an cellulosebasierten Materialien stetig gewachsen. Beispielsweise sind Fasern aus Nanocellulose in der Lage, Kompositmaterialien zu verstärken oder Gerüste für diagnostische Sensoren zu bilden.^[2] Größere Celluloseeinheiten wurden zudem als schützende Beschichtungen oder als Membranen für die Größenausschluss-Ultrafiltration eingesetzt.^[3] Papier ist das am weitesten verbreitete cellulosebasierte Material und papierbasierte Funktionseinheiten wie Mikrofluidik-Kanäle, Elektroden oder Sensoren entwickeln sich zusehends als preiswerte Elemente.^[4] Whitesides et al. entwickelten z. B. analytische Mikrofluidiksysteme (μ PADs) mit Papier als Plattform.^[2c] Kürzlich nutzten Barner-Kowollik et al. Photomasken, um die kovalente Anbindung von Antifouling-Polymeren und Peptiden auf Papier räumlich zu steuern.^[5] Zudem sind zahlreiche hocheffektive Ligationsmethoden bekannt, um die Hydroxygruppen der Cellulose zu modifizieren.^[6]

Ein direkter Weg, chemische Funktionen oder physikalische Eigenschaften in Makro- und Mikrostrukturen auf Papier anzugeben, liegt in der Nutzung kommerziell er-

hältlicher Drucker. Standard-Tintenstrahldrucker ermöglichen eine sehr präzise Ablagerung sehr kleiner Volumina auf unterschiedlichsten Trägermaterialien.^[7] Diese Technik diente als Grundlage für die Entwicklung neuer günstiger Werkstoffe durch beispielsweise das Drucken von organischer Elektronik, Polymerbeschichtungen oder Biomolekülen für verschiedene Anwendungen von Mikrofluidik oder Sensorik bis hin zur Gewebezüchtung.^[7,8] Obwohl das Verfahren des Tintenstrahldrucks sehr vielversprechend ist, wird die Vielfalt der möglichen Anwendungen durch die anspruchsvolle Entwicklung druckbarer funktionaler Tinte begrenzt. Ein alternatives Vorgehen kann diese Einschränkungen umgehen, indem Top-down- und Bottom-up-Prozesse kombiniert werden und der Laserdruck mit der Selbstorganisation von Peptiden vereint wird (Abbildung 1). Dabei

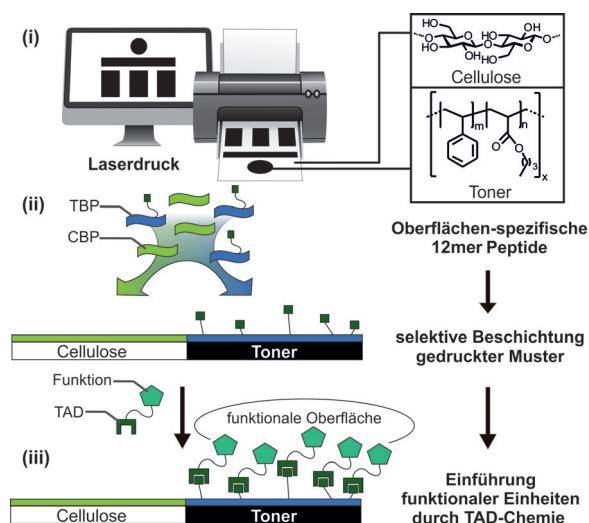


Abbildung 1. Entstehung funktionaler Muster. Muster werden mit einem handelsüblichen Laserdrucker auf Papier gedruckt (i). Gedruckte Strukturen und nicht bedrucktes Papier werden durch die spezifische Adsorption von Peptiddomänen selektiv beschichtet (ii; CBP = Cellulose-bindendes Peptid, TBP = Toner-bindendes Peptid). Nachträgliche Funktionalisierung von z. B. TBP erfolgt durch regioselektive Anbindung funktionaler Einheiten (iii).

* S. Große,⁺ Dr. P. Wilke,⁺ Prof. H. G. Börner

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Chemie
Labor für organische Synthese funktionaler Systeme
Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin (Deutschland)
E-Mail: h.boerner@hu-berlin.de
Homepage: <http://www.BoernerLab.de>

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201601603> zu finden.

ganischen (Nano)Partikel- oder Sensoroberflächen zu präsentieren.^[9] Mithilfe der biokombinatorischen Methode des Phagen-Displays lassen sich Peptidsequenzen nach einer materialspezifischen Adsorption selektieren. Solche Peptide können beispielsweise auf leitenden Polymeren selektiv binden,^[10] Polymethylmethacrylate mit unterschiedlicher Taktizität unterscheiden^[11] oder verschiedene Benzolderivate aufgrund unterschiedlicher Substitutionsmuster erkennen.^[12] Außerdem konnten mittels Phagen-Display Peptide identifiziert werden, die während der Kristallisation von anorganischen Materialien wie ZnO,^[13] Ag-Nanopartikeln^[14] oder Pt-Nanokristallen^[15] bestimmte Kristallmodifikationen binden und somit zur biomimetischen Kristallisation eingesetzt werden können. Weiterhin wurden Peptide gefunden, die an Octyltrimethoxysilan-Oberflächen adsorbierten, welche über Mikrokontaktdruck auf Siliciumsubstraten aufgetragen wurden.^[16]

Wir berichten nun über einen Weg zur selektiven Beschichtung von strukturierten Mustern, die mit einem handelsüblichen Laserdrucker mit kommerziellem Toner auf Cellulosepapier gedruckt wurden. Die Funktionalisierung der gedruckten Tonerregionen sowie der nicht bedruckten Celluloseregionen erfolgt durch die selektive Beschichtung mit materialspezifischen 12mer-Peptiden, welche mittels Phagen-Display identifiziert wurden. Diese Beschichtungen konnten durch photoinduzierte Vernetzung auf der Oberfläche stabilisiert und komplexe Funktionalitäten mit TAD-modifizierten Farbstoffen und funktionalen Peptiden eingeführt werden.

Die Technik des Phagen-Displays wurde angewendet, um adhäsive Peptide zu selektieren, die spezifisch auf der Toner- oder Celluloseoberfläche haften. Für die Selektion wurden kommerzielle Nanometer-Tonerpartikel zu zentimetergroßen Tonerpartikeln verschmolzen, um den Fixierschritt während des Druckvorgangs zu simulieren. Weiterhin wurde statt Papier mikrokristalline Cellulose verwendet, um die Selektion von Füllstoff- oder Leimstoff-bindenden Peptiden zu vermeiden. Die Phagenbibliothek bestand aus M13-Bakteriophagen mit einer insertierten randomisierten 12mer-Bindungsdomäne und umfasste einen Sequenzraum von ca. 10⁹ Peptiden. Bis zu vier Wiederholungen des „Biopannings“ wurden an beiden Substraten durchgeführt. Dabei wurden Standardprotokolle angewendet, die um eine Negativselektion am jeweiligen Anti-Substrat erweitert wurden, um die Spezifität zu den jeweiligen Zieloberflächen zu erhöhen (siehe Hintergrundinformationen S. S5–6). Aus dem selektierten Phagenpool wurden nach der 3. und 4. Screeningrunde je 20 Phagenklone pro Substrat sequenziert (siehe Hintergrundinformationen S. S8). Dies führte zu 16 Cellulose-bindenden (CBP) und 4 Toner-bindenden Peptiden (TBP; siehe Tabelle 1 und Tabelle S1).

Hierbei sollte allerdings hervorgehoben werden, dass die am häufigsten gefundene Sequenz nicht zwangsläufig die größte Materialspezifität aufweist. Für ein besseres Verständnis materialspezifischer Bindungsdomänen wäre weiterhin eine deutlich größere Menge von sequenzierten Phagenklonen notwendig. Obwohl die begrenzte Anzahl selektierter Sequenzen weder eine direkte statistische Auswertung erlaubt noch die Selektion materialspezifischer Peptide ga-

Tabelle 1: Mittels Phagen-Display an beiden Substraten identifizierte, ausgewählte Peptidsequenzen und deren Häufigkeiten in den analysierten Phagenklonen. (Effektivste Bindungsdomänen sind fett hervorgehoben.)

Sequenz	Substrat	Häufigkeit im Phagen-Display	Bezeichnung
MHPNAGHGSLMR^[a]	Cellulose	3	CBP1
TPQSFWQKGSLV^[a]	Cellulose	1	CBP2
SGVYKVAYDWQH	Toner	3	TBP1
LPVNGDAELWHS	Toner	9	TBP2

[a] Mit Cellulose-Bindungsdomänen aus celluloseabbauenden Bakterien übereinstimmende Sequenzen sind unterstrichen (für detaillierte Informationen siehe Tabelle S2).

rantiert, wurden jeweils zwei Peptide für jedes Substrat mittels Festphasenpeptidsynthese synthetisiert. Um fluoreszenzbasierte Untersuchungen durchführen zu können, wurden N-terminal ein (Gly)₃-Abstandshalter und Carboxyfluorescein (FAM) eingeführt, wodurch FAM-CBP_{1&2} und FAM-TBP_{1&2} resultierten (siehe Hintergrundinformationen S. S11–16). Eine substratspezifische Selektion während des Screeningprozesses wurde durch die bemerkenswerte Tatsache bestätigt, dass selektierte Cellulosebinder auffällige Sequenz-Analogien zu Cellulose-Bindungsmotiven aus Proteinen celluloseabbauender Bakterien aufweisen (siehe Tabelle S2).

Um das Bindungsverhalten und die Selektivität von FAM-CBP_{1&2} und FAM-TBP_{1&2} zu beiden Substraten zu untersuchen, erfolgten quantitative Inkubations-/Elutions-

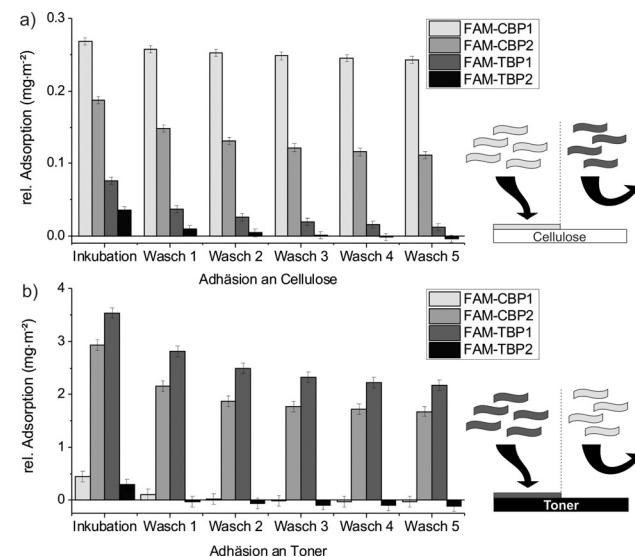


Abbildung 2: Inkubations-/Elutionsdiagramme der CBPs und TBPs an Cellulose (a) und Toner (b) zeigen die anfängliche Adsorption, die Spezifität und die endgültige Stabilität der Beschichtungen nach 5 Waschzyklen. Bedingungen: Fluoreszenzmarkierte Peptide (10 nmol) wurden für Adsorptionsexperimente an Cellulose in TBST-Puffer (0.5 mM, pH 7.5) und an Toner in Citratpuffer (50 mM, pH 6.5) gelöst. Peptidlösungen wurden für 10 min mit 50 mg des entsprechenden Substrats inkubiert. Isolierte beschichtete Substrate wurden für 2 min mit je 1 mL des entsprechenden Puffers gewaschen.

experimente mittels Fluoreszenzspektroskopie (Abbildung 2). Dafür wurden wässrige Lösungen der jeweiligen Peptide (10 nmol) mit je 50 mg mikrokristalliner Cellulose oder gemahlenen Tonerpartikeln inkubiert. Nach Zentrifugation steht die Abnahme der Peptidkonzentration im Überstand in direkter Proportionalität zur an der Oberfläche adsorbierten Menge an Peptid (Abbildung 2, Inkubation). Anschließend wurde schwach bindendes Peptid durch fünf aufeinanderfolgende Waschzyklen von der jeweiligen Substratoberfläche eluiert. Die Messung der Peptidkonzentration in den einzelnen Waschlösungen gibt Aufschluss über die Stabilität der jeweiligen Peptidbeschichtungen (Abbildung 2).

Beide FAM-CBPs zeigten unter den gegebenen Umständen eine signifikante Adsorption an der Celluloseoberfläche und bildeten stabile Beschichtungen. FAM-CBP₁ zeigte sich am effektivsten, da nur 10 % der anfänglich adsorbierten Menge an Peptid eluiert wurden, was eine stabile Beschichtung von 0.27 mg FAM-CBP₁ pro Gramm Cellulose ergab. Entscheidend ist jedoch die Kreuzselektivität zu dem entsprechenden Anti-Substrat. Während FAM-CBP₁ lediglich in geringen Mengen und vollständig reversibel an der Toneroberfläche adsorbierte, zeigte FAM-CBP₂ keine nennenswerte Selektivität. Dagegen führten beide FAM-TBPs zu einer sehr geringen und vollständig reversiblen Adsorption an Cellulose. Allerdings bildete nur FAM-TBP₁ eine stabile Beschichtung an der Toneroberfläche mit 0.13 mg Peptid pro Gramm Toner aus. Offenbar zählt TBP₂ zu einem Pool von Fehlersequenzen, die in Screenings auftreten und geringe adhäsive Eigenschaften aufweisen, aber dennoch während des Phagen-Displays aufgrund höherer Amplifikationsraten in den *E. coli*-Wirtsbakterien angereichert werden.^[17] Um einen signifikanten Anteil von Farbpigmenten an der Adsorption von TBP₁ am Toner auszuschließen, wurden analoge Adsorptionsexperimente an schwarzem, gelbem, rotem und blauem Toner durchgeführt (siehe Hintergrundinformationen S. S.26). Dabei zeigten sich lediglich geringe Unterschiede. Entsprechend wird die Adsorption von TBP₁ zum Toner durch die Bindung an das Tonerpolymer dominiert.

Um hervorzuheben, wie wichtig eine maßgeschneiderte Peptidsequenz aus einem Selektionsprozess ist, wurden zwei Kontrollpeptide zur Adsorption an Toner und Cellulose rational entworfen. Es ist bekannt, dass kationische Gruppen für die Wechselwirkungen mit Cellulose entscheidend sind, wie sie beispielsweise bei Retentionsmitteln auf Poly(ethylenimin)-Basis in der Papierherstellung genutzt werden.^[18] Daher wurde Arg₁₂ als potentieller Cellulosebinder getestet. Als entsprechendes Modell eines Tonerbinders wurde Phe₆ getestet, da π-π-Wechselwirkungen mit dem Poly(styrol-co-acrylat)-Matrixpolymer des Toners sehr wahrscheinlich sind. Zur verbesserten Wasserlöslichkeit wurde an beide Peptide ein Poly(ethylenoxid)-Block mit $M_n = 3.2 \times 10^3$ konjugiert, der bereits bei ähnlichen Beschichtungen zu keiner signifikanten Änderung der Wechselwirkungen zwischen Peptid und Oberflächen geführt hatte.^[19] Inkubations-/Elutionsexperimente zeigten das erwartete Adsorptionsverhalten beider Modellpeptide zu den jeweiligen Zielsubstraten (siehe Hintergrundinformationen Abbildung S16). Jedoch zeigten Untersuchungen zur Kreuzselektivität auch eine signifikante

Adsorption an den jeweiligen Anti-Substraten. Diese Ergebnisse verdeutlichen den großen Wert rationaler Überlegungen zur Erzeugung grundlegender Funktionen wie der Adsorption. Jedoch erfordert die Realisierung komplexerer Funktionen, wie z.B. materialspezifische Adsorption, Sequenzen, die mit den heutigen begrenzten Erkenntnissen von Peptid-Oberfläche-Wechselwirkungen nur schwerlich rational entworfen werden können.

Für ein besseres Verständnis des Beschichtungsverhaltens der Peptide wurde die maximale Oberflächenbeladung errechnet. Dafür wurden Inkubations-/Elutionsexperimente mit steigender Peptidkonzentration durchgeführt, bis die Substratoberflächen gesättigt waren. Mithilfe der BET-Oberfläche von $1.1 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ für Cellulose konnte eine theoretische Oberflächenbeladung berechnet werden. Dafür wurde für das Peptid eine Konformation zwischen einem all-trans-β-Strang und einem statistischen Knäuel angenommen (siehe Hintergrundinformationen Tabelle S4). Das Peptid bedeckt im zuletzt genannten Fall eine Oberfläche von ca. 0.4 nm^2 pro Kette, was zu einer Cellulose-Oberflächenbeladung von ca. 40 % führt. Für die Annahme der β-Strang-Konformation lässt sich ein Platzbedarf von 2.1 nm^2 pro Peptid berechnen, wodurch sich eine Oberflächenbeladung von rund 200 % ergibt. Da sich die Struktur des Peptides auf der Celluloseoberfläche nur schwer bestimmen lässt, wird eine leicht auseinandergezogene Knäuel-Konformation angenommen. In Lösung nehmen TBP₁ und CBP₁ die Struktur eines statistischen Knäuels an, was mittels Circulardichroismus-Spektroskopie durch einen typischen negativen Cotton-Effekt bei 195 nm gezeigt werden konnte (siehe Hintergrundinformationen S. S24). Allerdings ist eine genaue Bestimmung der vorliegenden Struktur der adsorbierten Peptide nicht trivial und diesbezüglich sind weitere Untersuchungen notwendig. Weiterhin konnten keine Berechnungen für gemahlene Tonen vorgenommen werden, da dieser eine für aussagekräftige BET-Messungen zu kleine Oberfläche hat.

Die Inkubations-/Elutionsexperimente verdeutlichen ein selektives Bindungsverhalten von CBP₁ und TBP₁ zu den isolierten Substraten Cellulose und Toner. Um zu zeigen, dass die Beschichtung gedruckter Muster mit nebeneinander liegenden Substraten ebenfalls möglich ist, wurden Adsorptionsuntersuchungen an bedrucktem Filterpapier durchgeführt. Im Gegensatz zu herkömmlichem Druckerpapier enthält Filterpapier keine künstlichen Beschichtungen oder Füllstoffe und verhindert somit nichtspezifische Wechselwirkungen zu Additiven. Mittels eines handelsüblichen Laserdruckers wurden Muster auf Papier gedruckt, wie in Abbildung 3 dargestellt. Das verwendete Drucksystem ergibt generell eine Auflösung im Bereich von rund $100 \mu\text{m}$, was hauptsächlich durch eine verringerte Schärfe der Tonergrenze bei kleineren Mustern begrenzt wird. Um die Analysemöglichkeiten zu erweitern, wurde TBP₁ mit Rhodamin B (RhoB-TBP₁) markiert, damit es von FAM-CBP₁ in fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen unterschieden werden kann.

Die Beschichtung gedruckter Muster wurde in zwei Schritten durchgeführt: Zuerst erfolgte die Tonerbeschichtung mit RhoB-TBP₁ in Citratpuffer (50 mm, pH 6.5), gefolgt von der Cellulosebeschichtung mit FAM-CBP₁ in TBST-Puffer (0.5 mm, pH 7.5). Fluoreszenzmikroskopie deutete im

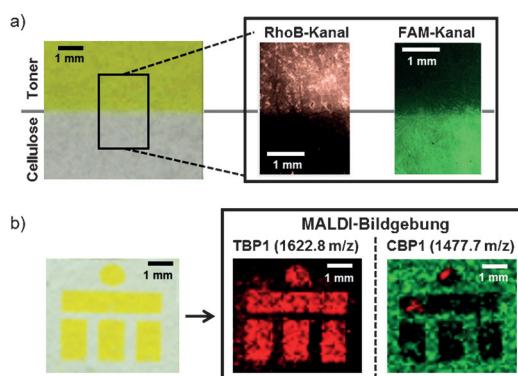


Abbildung 3. Materialspezifische Beschichtung gedruckter Muster auf Papier. a) Fluoreszenzmikroskopie von gelb bedrucktem Papier, das mit RhoB-TBP₁ inkubiert, mittels PICUP stabilisiert und anschließend mit FAM-CBP₁ inkubiert wurde (Lichtbild (links), Fluoreszenzbilder (rechts)). b) Bildgebende MALDI-Untersuchung nach der Inkubation mit TBP₁ (mittig) und nach anschließender Stabilisierung mittels PICUP sowie Inkubation mit CBP₁ (rechts) (Lichtbild (links), Intensitätsverteilung der Ionen von TBP₁ (rot) und CBP₁ (grün)). Bedingungen: Gedruckte Muster wurden mit RhoB-TBP₁/TBP₁ (0.2 mg mL⁻¹, 50 mM Citratpuffer (pH 6.5), 15 min) inkubiert. Nach der Stabilisierung mittels PICUP folgte die Inkubation mit FAM-CBP₁/CBP₁ (0.2 mg mL⁻¹, 0.5 mM TBST Puffer (pH 7.5), 10 min).

ersten Schritt auf eine selektive Beschichtung der Tonerstruktur hin, allerdings wurde im zweiten Schritt eine geringe Migration von RhoB-TBP₁ von der Toneroberfläche hin zur Cellulose beobachtet (siehe Abbildung S14). Dies kann möglicherweise durch eine hohe Selektivität bei einer relativ schwachen Bindung von TBP₁ zur Toneroberfläche erklärt werden.

Um dieser Migration vorzubeugen, wurden RhoB-TBP₁-Toner-Beschichtungen vor der Inkubation mit FAM-CBP₁ mittels der PICUP-Strategie (photoinduzierte Vernetzung von unmodifizierten Proteinen) immobilisiert.^[20] Die photoinduzierte radikalische Vernetzung wurde mit [Ru(bipy)₃] als Sensibilisator durch die Bestrahlung mit sichtbarem Licht für 10 s durchgeführt. Dadurch wurde die Tonerbeschichtung erfolgreich stabilisiert. Die anschließende Inkubation mit einer wässrigen Lösung von FAM-CBP₁ führte zu einer selektiven Beschichtung der Celluloseoberfläche. Fluoreszenzmikroskopie bestätigte die kontrollierte Beschichtung beider Oberflächen. Nach der Vernetzung war keine Migration von RhoB-TBP₁ zur Celluloseoberfläche während der Inkubation mit FAM-CBP₁ zu beobachten (Abbildung 3a). Dies wird durch eine scharfe Grenze zwischen dem mit RhoB-TBP₁ beschichteten Toner und der mit FAM-CBP₁ beschichteten Cellulose verdeutlicht.

Weiterhin wurde der Einfluss der Fluoreszenzmarker (RhoB, FAM) auf die Selektivität und die Stabilität beider Peptidbeschichtungen untersucht. Entsprechende Experimente mit den unmarkierten Peptiden TBP₁ und CBP₁ wurden durch die MALDI-Bildgebung ermöglicht. Dafür erfolgten die Beschichtungen analog der vorherigen Beschreibung. Die Experimente bestätigten eine spezifische Lokalisierung beider Peptide auf den entsprechenden Substratregionen eines auf Filterpapier gedruckten Musters (Abbildung 3b). Außerdem zeigte die Abwesenheit des

Massensignals von TBP₁ nach der PICUP-Fixierung die erfolgreiche Vernetzung der Peptidbeschichtung.

Obwohl eine materialspezifische Adsorption zweier unterschiedlicher Beschichtungen realisiert werden konnte, ist dieser Prozess empfindlich, da Störungen mit zusätzlichen funktionalen Abschnitten innerhalb der Peptide auftreten könnten. Daher wurde für die Einführung neuer funktionaler Einheiten an die spezifischen Beschichtungen eine vielfältig anwendbare Postfunktionalisierungs-Strategie vewendet. Diese konnte mittels der literaturbekannten chemoselektiven Ligation von Tyrosin-Seitenketten mit 4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion (PTAD) umgesetzt werden.^[21] TBP₁ enthält zwei Tyrosinreste (Tyr4 und Tyr8), während CBP₁ frei von Tyrosin ist. Daher konnte diese Ligationsstrategie genutzt werden, um funktionale Einheiten kovalent und selektiv an die Tonerbeschichtung auf dem gedruckten Muster zu binden. Abbildung 4 zeigt die Einführung des PTAD-funktionalisierten

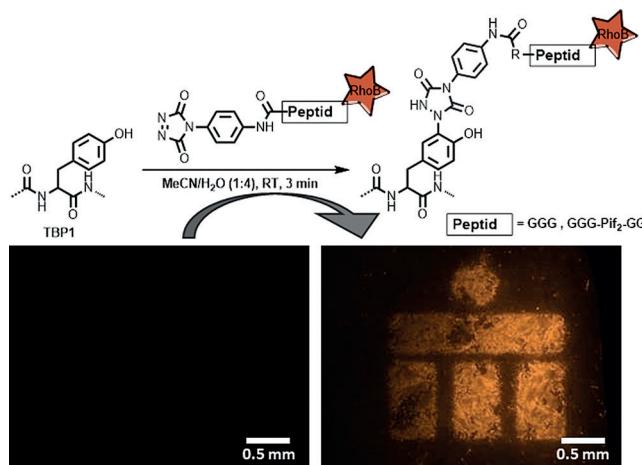


Abbildung 4. Triazolindion-Ligation von PTAD-Peptid-Rhodamin B an Tyrosineinheiten in der TBP₁-Tonerbeschichtung (oben). Fluoreszenzmikroskopie vor (links) und nach (rechts) der Ligation zeigt die selektive Funktionalisierung der gedruckten Tonerstruktur (unten). Bedingungen: Gedruckte Muster wurden mit TBP₁ beschichtet, durch PICUP vernetzt und anschließend mit CBP₁ beschichtet. Die Modifikation mit PTAD-GGG-RhoB erfolgte in MeCN/H₂O/DMF (19:76:5) für 3 min mit 0.34 nmol des aktiven Linkers.

Peptids Gly₃-Rhodamin B an die selektive Beschichtung eines gedruckten Musters. Das RhoB-markierte Peptid wurde dabei C-terminal über Amidierung an ein 4-Aminophenyl-1,2,4-triazolidin-3,5-dion (APTAD-Vorstufe) gekuppelt (siehe Hintergrundinformationen S. S9). Nach der Aktivierung zu dem entsprechenden Triazolindion mittels N-Bromsuccinimid konnte die Bindung an das immobilisierte TBP₁ unter wässrigen Bedingungen innerhalb von 3 min durchgeführt werden. Fluoreszenzmikroskopie bestätigte, dass keine ungewollten Nebenreaktionen mit der Cellulose oder der CBP₁-Beschichtung auftraten. Um die Vielseitigkeit dieser Strategie zu verdeutlichen, wurde die APTAD-Vorstufe einschließlich Gly₃-Platzhalter an ein Modell für das Carbonat-bindende Motiv Pif₂ ((DDRK)₂) gebunden, das aus dem Aragoit-bindenden Protein Pif80 einiger Muschelschalen stammt.^[22] Diese Sequenz enthält die basischen Aminosäuren

Arg/Lys, die möglicherweise mit der Cellulose oder auch der Cellulose/CBP₁-Beschichtung wechselwirken könnten.^[18] Zur fluoreszenzbasierten Detektion wurde das Peptid N-terminal um ein RhoB-GG-Label erweitert. Die nachträgliche hochselektive Funktionalisierung der Tonerbeschichtung eines gedruckten Musters konnte mittels Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen werden (siehe Hintergrundinformationen S. S23-24).

Zusammenfassend wurde eine Strategie zur selektiven Beschichtung gedruckter Muster sowie unbedruckter Papierregionen entwickelt, die auf der materialspezifischen Adsorption von Peptiden basiert. Mittels Phagen-Display wurden 12mer-Peptide gefunden, die spezifisch an Toner oder Cellulose adhärierten und effektiv zwischen beiden Substraten unterscheiden. Die Selektivität der Beschichtungen wurde durch Fluoreszenzmikroskopie und MALDI-Bildgebung bestätigt. Die Beschichtungen konnten ferner mittels photoinduzierter radikalischer Vernetzung mit [Ru(bipy)₃] auf der Substratoberfläche stabilisiert werden. Anschließend wurde die Einführung komplexer Funktionalitäten oder funktionaler Segmente demonstriert. Die Funktionalisierung im Anschluss zur Beschichtung führte Triazolindion-tragende funktionale Peptide selektiv auf der Tonerbeschichtung ein, während Cellulosebeschichtungen nicht adressiert wurden. Dieser Ansatz ermöglicht neue Wege zur Entwicklung kostengünstiger Materialien. Die selektive Beschichtung von Ausdrucken aus handelsüblichen Laserdruckern kann zum einen in großem Maßstab durchgeführt werden. Zum anderen ist eine nachträgliche Modifizierung mit spezifischen funktionalen Einheiten bei Bedarf in weniger als fünf Minuten möglich. Somit haben wir einen neuen Weg zur Herstellung vielseitiger cellulosebasierter Materialien aufgezeigt.

Danksagung

Wir danken A. Zimathies und Dr. F. Emmerling von der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) für BET-Messungen, Dr. S. Beck von der Humboldt Universität zu Berlin für die MALDI-Bildgebungsexperimente und K. De Bruycker und Prof. Dr. F. E. Du Prez für wertvolle Diskussionen. Die Finanzierung wurde vom Europäischen Forschungsrat im Zuge des 7. Forschungsrahmenprogramms (FP07–13) der Europäischen Union gewährleistet (ERC Starting grant „Specifically Interacting Polymer—SIP“, ERC 305064).

Stichwörter: Biomolekül-Ligation · Cellulosefunktionalisierung · Funktionale Peptidbeschichtungen · Materialspezifische Beschichtungen · Phagen-Display

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 11266–11270
Angew. Chem. **2016**, *128*, 11435–11440

[1] a) D. Klemm, B. Heublein, H. P. Fink, A. Bohn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3358–3393; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3422–3458; b) P. Fratzl, R. Weinkamer, *Prog. Mater. Sci.* **2007**, *52*, 1263–1334; c) X. Qiu, S. Hu, *Materials* **2013**, *6*, 738–781; d) D. Klemm, F. Kramer, S. Moritz, T. Lindstrom, M. Ankerfors, D.

Gray, A. Dorris, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5438–5466; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 5550–5580.

- [2] a) A. K. Bledzki, J. Gassan, *Prog. Polym. Sci.* **1999**, *24*, 221–274; b) R. Derda, S. K. Y. Tang, A. Laromaine, B. Mosadegh, E. Hong, M. Mwangi, A. Mammoto, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, *PLoS ONE* **2011**, *6*, e18940; c) A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, E. Carrilho, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3–10; d) E. Morales-Narváez, H. Golmohammadi, T. Naghdi, H. Yousefi, U. Kostiv, D. Horák, N. Pourreza, A. Merkoçi, *ACS Nano* **2015**, *9*, 7296–7305; e) S. Diekmann, G. Siegmund, A. Roecker, D. O. Klemm, *Cellulose* **2003**, *10*, 53–63.
- [3] a) C. Wang, R. A. Venditti, K. Zhang, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 5791–5799; b) D. Rana, T. Matsuurra, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2448–2471.
- [4] a) X. Li, J. Tian, W. Shen, *Cellulose* **2010**, *17*, 649–659; b) A. Razaq, M. H. Asif, R. Kalsoom, A. F. Khan, M. S. Awan, S. Ishrat, S. M. Ramay, *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, *132*, 5; c) S. Kumar, S. Kumar, S. Srivastava, B. K. Yadav, S. H. Lee, J. G. Sharma, D. C. Doval, B. D. Malhotra, *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *73*, 114–122; d) J.-W. Han, B. Kim, J. Li, M. Meyyappan, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 22094–22097; e) A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 19606–19611.
- [5] a) T. Tischer, C. Rodriguez-Emmenegger, V. Trouillet, A. Welle, V. Schueler, J. O. Mueller, A. S. Goldmann, E. Brynda, C. Barner-Kowollik, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 4087–4092; b) T. Tischer, A. S. Goldmann, K. Linkert, V. Trouillet, H. G. Börner, C. Barner-Kowollik, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 3853–3864; c) T. Tischer, T. K. Claus, M. Bruns, V. Trouillet, K. Linkert, C. Rodriguez-Emmenegger, A. S. Goldmann, S. Perrier, H. G. Börner, C. Barner-Kowollik, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 4340–4350.
- [6] E. Malmström, A. Carlmark, *Polym. Chem.* **2012**, *3*, 1702–1713.
- [7] E. Tekin, P. J. Smith, U. S. Schubert, *Soft Matter* **2008**, *4*, 703.
- [8] a) A. Teichler, J. Perelaer, U. S. Schubert, *J. Mater. Chem. C* **2013**, *1*, 1910; b) E. Carrilho, A. W. Martinez, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7091–7095; c) D. Hohnholz, H. Okuzaki, A. G. MacDiarmid, *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 51–56; d) N. Komuro, S. Takaki, K. Suzuki, D. Citterio, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 5785–5805; e) B. J. de Gans, P. C. Duineveld, U. S. Schubert, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 203–213.
- [9] a) F. Baneyx, D. T. Schwartz, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, *18*, 312–317; b) H. G. Börner, *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32*, 115–126; c) Q. Wei, K. Achazi, H. Liebe, A. Schulz, P.-L. M. Noeske, I. Grunwald, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11650–11655; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 11834–11840; d) P. Wilke, N. Helfricht, A. Mark, G. Papastavrou, D. Faivre, G. H. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12667–12674; e) F. Hanßke, E. Kemnitz, G. H. Börner, *Small* **2015**, *11*, 4303–4308; f) T. Schwemmer, J. Baumgartner, D. Faivre, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2385–2391; g) J.-F. Lutz, Z. Zarafshani, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2008**, *60*, 958–970; h) A. K. Muszanska, H. J. Busscher, A. Herrmann, H. C. van der Mei, W. Norde, *Biomaterials* **2011**, *32*, 6333–6341; i) T. Sawada, H. Miura, T. Serizawa, *Chem. Rec.* **2013**, *13*, 172–186; j) T. Paulöhr, A. Welle, M. Bruns, K. Linkert, H. G. Börner, M. Bastmeyer, G. Delaittre, C. Barner-Kowollik, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9714–9718; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 9896–9900; k) J. K. Berg, T. Jordan, Y. Binder, H. G. Börner, D. Gebauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12512–12515; l) K. M. Marks, M. Rosinov, G. P. Nolan, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 347–356.
- [10] A. B. Sanghvi, K. P. H. Miller, A. M. Belcher, C. E. Schmidt, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 496–502.
- [11] T. Serizawa, H. Matsuno, T. Sawada, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 10252–10260.
- [12] S. Ju, K.-Y. Lee, S.-J. Min, Y. K. Yoo, K. S. Hwang, S. K. Kim, H. Yi, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 1–6.

- [13] M.-K. Liang, O. Deschaume, S. V. Patwardhan, C. C. Perry, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 80–89.
- [14] R. R. Naik, S. J. Stringer, G. Agarwal, S. E. Jones, M. O. Stone, *Nat. Mater.* **2002**, *1*, 169–172.
- [15] C.-Y. Chiu, Y. Li, L. Ruan, X. Ye, C. B. Murray, Y. Huang, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 393–399.
- [16] Y. Cui, A. Pattabiraman, B. Lisko, S. C. Collins, M. C. McAlpine, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1204–1205.
- [17] M. Vodnik, U. Zager, B. Strukelj, M. Lunder, *Molecules* **2011**, *16*, 790–817.
- [18] M. A. Hubbe, H. Nanko, M. R. McNeal, *BioResources* **2009**, *4*, 850–906.
- [19] P. Wilke, G. H. Börner, *Eur. Polym. J.* **2015**, *62*, 374.
- [20] G. W. Preston, A. J. Wilson, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3289–3301.
- [21] a) H. Ban, J. Gavrilyuk, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1523–1525; b) S. Billiet, K. De Bruycker, F. Driessens, H. Goossens, V. Van Speybroeck, J. M. Winne, F. E. Du Prez, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 815–821.
- [22] M. Suzuki, K. Saruwatari, T. Kogure, Y. Yamamoto, T. Nishimura, T. Kato, H. Nagasawa, *Science* **2009**, *325*, 1388–1390.

Eingegangen am 15. Februar 2016
Online veröffentlicht am 23. Juni 2016
